# PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number:

2000-316567

(43) Date of publication of application: 21.11.2000

(51)Int.CI.

C12N 1/20// (C12N 1/20 C12R 1:225 ) (C12N 1/20 C12R 1:23

(21)Application number : 2000-126769

(71)Applicant : SOC PROD NESTLE SA

(22)Date of filing:

27.04.2000

(72)Inventor: ZINK RALF

**ELLI MARINA** 

**RENIERO ROBERTO MORELLI LORENZO** 

(30)Priority

Priority number: 99 99108717 Priority date: 30.04.1999

Priority country: EP

### (54) CULTURE MEDIUM FOR PROLIFERATING GENUS LACTOBACILLUS

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a culture medium for proliferating a bacterium of the genus Bacillus improved in proliferation efficiency and containing a substrate derived from a milk by adding plural amino acids, a ribonucleoside and iron in amounts sufficient to promote the proliferation.

SOLUTION: This culture medium is obtained by adding (A) preferably 50-100 mg (based on 1L of a milk) of four or more amino acids such as cysteine, alanine, serine or isoleucine, (B) preferably 10-100 mg of a ribonucleoside such as adenosine or guanosine and (C) preferably 50-100 mg of iron such as iron (II) sulfate in amounts sufficient to promote the proliferation of a bacterium of the genus Lactobacillus such as the genus Lactobacillus belonging to the Johnson groups A and B. The culture medium for the proliferation preferably further contains a compound selected from the group consisting of cysteine, thioglycolic acid, ascorbic acid or a mixture thereof and providing a reducing activity.

### LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

27.05.2002

[Date of sending the examiner's decision of

rejection]

[Kind of final disposal of application other than

the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

3652217

[Date of registration]

04.03.2005

[Number of appeal against examiner's decision

of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]
[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

### (19)日本国特許庁 (JP)

## (12) 公開特許公報(A)

(11)特許出願公開番号 特開2000-316567 (P2000-316567A)

(43)公開日 平成12年11月21日(2000.11.21)

(51) Int.Cl.'  C 1 2 N 1/20  // (C 1 2 N 1/20  C 1 2 R 1: 225)  (C 1 2 N 1/20  C 1 2 R 1: 23)	設別記号	FI C12N	テーマコート* (参考) 1/20 A
		<b>家</b> 家 衛 全 審	未請求 請求項の数9 OL (全 8 頁)
(21)出願番号	特顏2000-126769(P2000-126769)	(71)出顧人	590002013 ソシエテ デ プロデユイ ネツスル ソ
(22)出顧日	平成12年4月27日(2000.4.27)	•	シエテ アノニム スイス国プペイ, ピー オー ポツクス
(31) 優先権主張番号	99108717. 2		<b>353</b>
(32) 優先日	平成11年4月30日(1999.4.30)	(72)発明者	ラルフ ツインク <sup>"</sup>
(33)優先権主張国	欧州特許庁 (EP)		スイス国 ル モン プルラン、シュマン メゾン ジャン 36
		(72)発明者	マリナ エリイ
			スイス国 ローザンヌ、アプニュ ド ラ ザラツ 50
		(74)代理人	
		( 4   <del>4</del> 7 ) (	<b>弁理士 浅村 皓 (外3名)</b>
			最終頁に続く

## (54) 【発明の名称】 ラクトパチルス属の増殖用培地

### (57)【要約】

【課題】 本発明の課題は、種々の異なるラクトパチルス属の、好ましくはジョンソングループAおよびBの増殖に適応し、かつ異臭の発生等の技術的な問題のない、新規の培地を供することである。

【課題を解決する手段】 少なくとも4つのアミノ酸、 リボヌクレオシドおよび鉄の、ラクトバチルス属の増殖 を促進するのに充分な量を補足した、乳由来の基体を含 む培地を供する。

### 【特許請求の範囲】

【請求項1】 少なくとも4つのアミノ酸、リボヌクレオシドおよび鉄を、ラクトバチルス属の増殖を促進するのに充分な量添加することを特徴とする、乳由来の基体を含むラクトバチルス属の増殖用培地。

【請求項2】 リボヌクレオシドの量は約1から約500 mg/7の範囲、好ましくは約10から約100 mg/7の範囲である、請求項1に記載の培地。

【請求項3】 リボヌクレオシドはアデノシン又はグアノシンである、請求項1又は請求項2に記載の培地。

【請求項4】 1 7 の乳当たり約 10 から約 200 mg の鉄、好ましくは約50 から約 100 mg の範囲の量を含む、請求項1から3の何れか1項に記載の培地。

【請求項5】 加えるアミノ酸は、1 1 の乳当たり約 10 から約 200 mgの、好ましくは約 50 から約 100 mg の範囲の量の、好ましくはシステイン、アラニン、セリンおよびイソロイシンである、請求項1から4の何れか 1 項に記載の培地。

【請求項6】 還元活性を供する化合物を含む、請求項 1から5の何れか1項に記載の培地。

【請求項7】 還元活性を供する化合物は、システイン、チオグリコール酸、アスコルビン酸又はその混合物から成る群から選択される、請求項6 に記載の培地。

【請求項8】 ジョンソングループAおよびBに属する ラクトバチルス属を培養するための、請求項1から7の 何れか1項に記載の培地の使用。

【請求項9】 発酵した、又は発酵していない乳製品の製造のための、請求項1から7の何れか1項に記載の培地の使用。

### 【発明の詳細な説明】

### [0001]

【発明の属する技術分野】本発明は少なくとも4つのアミノ酸、リボヌクレオシドおよび鉄を補足した乳由来の基体を含む、ラクトバチルス属の増殖に適応した新規培地に関する。特に本発明は、乳製品の製造用の種々の異なるラクトバチルス属菌株、例えば、 L.ジョンソニィ、 L. アシドフィラス、 L. ガリナラムを培養するための新規培地の使用に関する。

### [0002]

【従来の技術】乳酸菌は、以前からヨーグルト、チーズ、カード等の種々の食品材料の製造に使用されてきた。食品工業における発酵目的のための一般的使用以外に、つい最近ラクトバチルス属又はピフィドバクテリア属に属するある種の菌株は、それらに起因するプロバイオティック特性により、多くの注目を引いている。従って、微生物量の生産を最大にすることができるように、培養条件を改善する要求があった。

[0003] それらの大規模な生産およびそれらの適用 性に関する乳酸菌の一つの欠陥は、それらの栄養要求が 異なることである。との関係で、ある特定の属又は種に 50

属する異なる菌株は、最適の増殖のために異なる培地を必要とし、そのことは微生物量の標準的な生産を複雑化し、かつ厄介なものにしている。そのように、ラクトバチルス属の異なる菌株の微生物量を生産する際に、種々の異なる培地を利用せねばならず、その各々は特定の菌株の栄養要求を満たすものであるが、その中の他のラクトバチルス菌株の充分な増殖を供するものではない。

【0004】乳酸菌株を培養するのにしばしば利用される培地は牛乳である。一方、この培地は複雑な自然の環10 境を供し、かつその発酵生成物、例えばヨーグルトは直接食品材料として使用することができる。しかし、この培地は限定された数の菌株の乳酸菌の増殖を支持するだけであることが証明された。例えば、ジョンソングルーブAおよびBのラクトバチルス属は本質的に乳の中で増殖し、かつ培養することができず、乳は前記の菌株の培地として役に立たないことを示した。

【0005】ある場合には、酵母抽出物又は種々の起源のペプトンのような不確定で非常に複雑な組成の物質を乳に加えた時に細菌の増殖は改善できた。しかし、これらの付加的成分はしばしば異臭を生じ、その結果、そのような方法で補足した培地中で増殖する培養物は乳製品の工業的製造に使用できない。さらに、そのような方法は費用がかかり、かつ繰り返した場合に達成される細菌の計測数の結果が変化することが、微生物の菌株の商業的製造を不適切にする。

### [0006]

【発明が解決しようとする課題】この点を考慮して、本 発明の問題点は、ラクトバチルス菌株の増殖を支持する と共に、従来技術の欠陥のない、培地を供することであ 30 る。

#### [0007]

【課題を解決する手段】この問題は、少なくとも4つのアミノ酸、リボヌクレオシドおよび鉄を補足した乳由来の基体を含む、ラクトバチルス属菌株の増殖用の培地を供することにより解決された。

[0008] 好ましい実施態様によれば、培地に加えるべきリボヌクレオチド前駆物質(即ち遊離塩基、リボヌクレオシド、デオキシリボヌクレオシド)の量は、各培地11当たり約 10 から約 5000 mg、好ましくは約 10 から約 100 mg の範囲である。

【0009】さらに他の好ましい実施態様によれば、1 1の乳当たり約 50 から 100 mgの量の鉄を培地に、加える。

【0010】さらに、培地は、当業者が入手可能な現存のアミノ酸である、少なくとも4つのアミノ酸により補足される。乳の基体に加えるアミノ酸の量は、1 1 の乳当たり約 10 から約 200 mg の範囲、好ましくは約 5 0 から 100 mg の範囲である。さらに、好ましい実施態様によれば、アミノ酸はシステイン、アラニン、セリンおよびイソロイシンからなる群から選択され、それらの

アミノ酸は特にラクトバチルス属の増殖条件を改善する ととが分かった。

【0011】さらに他の好ましい実施態様によれば、培 地は、アスコルビン酸、ビタミンE、トコトリエノー ル、ユピキノール、β-カロテンおよび他のカロチノイ ド、ロスマリン化合物(例えばカルノソール)および他 のフラボノイドのような還元活性を供する化合物、およ びグルタチオン、リポ酸、N-アセチルシステインを包含 する他の含硫抗酸化剤、又はスルフヒドリル基、システ イン又はチオグリコール酸を有する化合物、又はそれら 10 換できることが仮説としてとりあげられる。 の混合物を補足することもできる。アミノ酸のその使用 に関しては、そのような還元活性を供する化合物として システインが好ましい。

【0012】培地に含まれる乳由来の基体は、全脂肪乳 又は部分的に脱脂した乳、脱脂乳又はUHT乳のような 全ての乳の変形であることができ、又は乾燥した粉乳か ら水の添加により調製することができる。液状乳の基体 はそのようなものを使用することができ、又は例えば水 のような他のよく知られている成分を、乳を望ましい程 度に希釈するために加えることができる。

【0013】図について、図1は、 し. ジョンソニィ し al (NCC 533) を 1%の酵母抽出液および4つのリボ ヌクレオシド、4つのアミノ酸と硫酸第1鉄の混合物を 補足した 10 %の脱脂および全脂のUHT乳の中で 24 時間培養後に得たラビット(RABIT)曲線間の比較 を示す。

(1) 全脂UHT乳+4つのリボヌクレオシド+4つのア ミノ酸: (2) 全脂UHT乳+酵母抽出液: (3) 脱脂 乳+酵母抽出液; (4) 脱脂乳+4つのリポヌクレオシ ノシンおよびグアノシン+4つのアミノ酸+硫酸第1 鉄。

【0014】図2は、 L. ガリナラム DSM 33199 つ の成長における、4つのリボヌクレオシド、4つのアミ ノ酸および硫酸第1鉄を有する 10%脱脂および全脂U HT乳の補足の影響を示す。 (1) 10 %の脱脂乳:

(2) 10 %の脱脂乳+4つのアミノ酸+4つのリボヌク レオシド+硫酸第1鉄; (3) 全脂UHT乳; (4) 全 脂UHT乳+4つのアミノ酸+4つのリボヌクレオシド +硫酸第1鉄。

【0015】本発明に導かれる広範な研究の間に、種々 のパラメーターが乳を基体とした培地にてラクトバチル ス属の増殖の原因となると思われることが分かった。

【0016】牛乳は特異含量のリボヌクレオシドを有す ることは知られているが、生産の季節および国により変 化する。プリン誘導体はほんの少量あるが、乳中のリボ ヌクレオシドの約 95 %以上はオロチン酸であり、それ は細菌の細胞によりピリミジン前駆物質として使用され る。乳中の低含量のアデニンおよびグアニン・ヌクレオ チドは、 L. カゼイおよび L. ブランタラムのような D 50 は単にある特定な菌株の生存可能な細胞数の増加をもた

NAおよびRNA前駆物質の「新たな」合成を行うこと ができる、ある菌株の条件付きで細菌の増殖に否定的に 影響する。しかし、ブリン誘導体を乳に加えた時、ある 場合には抑制的な影響さえ観察された。

【0017】L. ジョンソニィ、 L. ガセリィ、 L. ク リスパトス、 L. アミロボラス、 L.ガリィナラムおよ び し. アシドフィラスのようなあるラクトバシルス菌株 は乳中で高濃度で再生できないので、異なる化学物質の 組合せが研究され、不確定な組成の成長刺激性物質に置

【0018】他の推定される刺激性物質の同一性を見つ けるため、数度の試験をリボヌクレオチド前駆体、即 ち、遊離塩基(アデニン、グアニン、シトシン、チミ ン、ウラシル)、リボヌクレオシド(アデノシン、シチ ジン、ウリジン、グアノシン)および 2' -デオキシリ ボヌクレオシド(デオキシアデノシン、デオキシグアノ シン、デオキシシチジン、デオキシウリジンおよびチミ ジン)で行った。それらは、各種濃度で濃縮したアルカ リ性又は中性溶液として乳に補足した。

【0019】リポヌクレオシドを添加することにより、 20 最も強力な効果を示すアデノシンおよびグアノシンで は、乳中の、ラクトバチルス属の増殖条件を改善する。 との知見は、乳中の低濃度のプリンは、乳中の細菌の増 殖に明らかに否定的な影響をおよぼすとの仮説を確認し た。一般に、高含量のオロチン酸は、ラクトバチルス属 の増殖のために刺激的因子を示し、ビリミジン塩基を合 成させることが分かった。好気性および嫌気性条件で遊 離塩基およびデオキシリボヌクレオシドの添加により、 pH 値の重大な差は、検出されなかった。特に嫌気性の ド+4つのアミノ酸+硫酸第1鉄; (5) 脱脂乳+アデ 30 環境におけるリボヌクレオシドに関する、正の影響を示 す、細菌の増殖の1対数以上の改善が観察された。

> 【0020】リボヌクレオシドおよび最強の酸性濃度を それぞれ添加してラクトバチルス属の数を増加するため の最良の改善はアデノシン、グアノシン、および/又は シチジンおよびウリジンの、各 0.1 g/1 の量の添加に より達成された。との混合物はそれだけで酵母抽出物の 添加により達成される能力に匹敵する濃度、 L. ジョン ソニィ、 L. アシドフィラスおよび L. ガリナラムの増 殖を支持する能力を、示すけれども(図1, 2および表 3参照)、 L. アミロボルス、 L. クリスパトスおよび L. ガセリィ由来の他のラクトバチルス菌株では、著し い明白な効果が観察されなかった。

> 【0021】補足物としてリボヌクレオシドの代わり に、乳に遊離塩基 (アデニン、シトシン、ウラシル、チ ミンおよびグアニン)を添加した場合、同様な結果が得 られた。しかしその場合、菌株はマグネシウムおよびア スパラギン酸に対する要求を示す傾向があった。

> 【0022】さらに、数度の試験を、異なる2'ーデオキ シヌクレオシドを乳に補足することにより行った。それ

ちした。

【0023】単独で乳に加えた場合、上記の化学物質の どれも多数の異なる菌株の増殖を髙水準で支持できなか ったという上記の知見にもかかわらず、驚くべきとと に、アミノ酸、リボヌクレオシドおよび鉄(例えば硫酸 鉄の形態で) からなる組合わせは、異なるラクトバチル ス種の増殖を実際に促進することが分かった。上記の組 合せ混合物の中の異なる化合物の数を最低限度に減じた 実験において、乳に加えることを指定された各化合物の 最小数は、少なくとも2つのリボヌクレオシド、好まし くはアデノシンおよびグアノシン、4 つのアミノ酸およ び鉄であることが分った。この混合物は、ジョンソング ループの菌株のような種々の異なるラクトバシルス菌株 の増殖を、酵母抽出物又はペプトンを乳に添加すること によって得られるものに匹敵する細胞数および最終の p Hについて改善することができた。

【0024】さらに、上記の化学物質の組合せを補足し た培地からなる混合物に鉄を加えることは、得た結果を 改善することが分かった。この知見は、乳はその豊富な 組成にもかかわらず、ラクトフェリンとして複合されて 20 いる鉄に強い欠陥があるから、その中で増殖するどの微 生物に利用できないと説明することができる。

【0025】従って、最良の結果は、アデノシン、グア ノシン、および/又はシチジンおよびウリジンを各 0.1 q/1 の量で、アラニン、セリン、イソロイシン、シス テイン (各 0.05 g/1) および FeSO4 (0.1 a/1) の添 加により得られた。

【0026】脱脂および全脂の両者のUHT乳は、上記 の化合物の組合せを補足した時、最上の結果を得ると言 う事実は、乳の脂肪成分がラクトバチルスの成長を刺激 30 た。 L. ジョンソニィに対する表 1 に要約された結果 する役割を有しないと同様に、殺菌処理(UHT)が乳 の細菌の成長を支持する可能性に否定的に影響しない、 と言う仮定に導いた。

### [0027]

【発明の実施形態】次の例は限定されることなく、本発 明を具体的に説明する。

### 例

#### 細菌菌株および培養条件

L. ジョンソニィ菌株 ATCC 33200', La1 (NC C 533) , ATCC11506 (以前は L. アシドフィラス 40 HT乳を使用して確認することがきた。 24 時間培養 R-26として知られていた), ATCC 332, DSM20 553, , L. アシドフィラス ATCC 4356 , La 1 0 (NCC 90) , L. ガセリィDSM 20243 , L. ク リスパトス DSM 20531', L. アミロボラス DS M 20584 および L. ガリィナラム DSM 33199 を、MRS (Difco) ブロス又は寒天の中で、3プCで増 殖した。滅菌水中の脱脂乳 (Difco) 10% W/V および 全脂UHT乳(パルマラート、イタリア)を使って、増 殖検定を行った。栄養分が培地を経て移行するのを避け るため、2度洗浄し、最後に同量の無菌蒸留水で再度懸 50 ンソニィ菌株に対して再確認された。

濁した1昼夜MRS培地の1%を、ミルクチューブに摂 取した。

#### 培養パラメーター

ミルクチューブは、好気的にサーモスタット (Sorval) Heraeus) の中で 37°Cで 24 時間、および嫌気性イン キュベーター (モデル 1024, フォーマ・サイエンティ フィック、米国) の中で嫌気的に 37°Cで 24 時間培養 をした。

### 乳の補足

乳に補足する化学物質は、メルク・インデックス社によ り調製された濃縮溶液として加えた。乳の最終 pH は、 補足後、4 Nの NaOH を使用して 6.8 に調節した。10 %の脱脂乳溶液および全脂UHT乳の最終 pH は、それ ぞれ 6.8 および 6.7 であった。

#### 細菌増殖の評価

増殖の結果は、細胞の計測数により評価し、そして最終 ·pH の測定は、 37 °Cで 24 時間の培養後行った。細菌 インピーデンス技術の急速分析 (RABIT) (ドン・ ホイットリィ・サイエンティフィック社、ウエスト・ヨ ークシャ、英国)を使って、脱脂および全脂UHT乳 で、 37 ℃で 24 時間の試験を行った。L. ジョンソニ ィATCC 33200および L. ジョンソニィ Lal (NCC 533)の菌株を含むジョンソングループAおよびBの6 種全部の記載された 11 菌株を使用して実験を行ない、 乳中の栄養要求量を測定した。その結果は、乳中の菌増 殖に及ぼす酵母抽出物およびその他の化学的に不確定な 組成の物質の正の影響を再起し得るある化学物質の同定 に導いた。調査中の菌株は10%脱脂および全脂UHT乳 の両者の中で増殖することができないことが立証され は、24時間培養後にとれらの天然の培地の適度な酸性 化が生じ、その結果、たとえ培養を嫌気性の条件下で行 っても、最終の成長可能な細胞数に1対数未満の増加を 示している。脱脂および全脂UHT乳の両者における同 様な性質は、 L. ガセリィ、 L. アミロボラス、 L. ク リスパトス、 L. アシドフィラスおよび L. ガリナラム のタイプの菌株にも観察された。脱脂乳を1% V/V の 酵母抽出物 (アドサ、イタリア) で補足すると、成長可 能な細胞数は2対数の改善となった。この結果は全脂U 後、4.0 の最終 pH は酵母抽出物の添加により、得られ た(表1)。最上の細菌の成長のために必要とした最終 の酵母抽出液濃度は、0.1 から 1.0% v/v に変化し た。異臭と色の変化の発生は、この物質を補足した発酵 した乳製品の中に観察するととができる。 【0028】L. ジョンソニィ La 1 (NCC 533) の 1 0%脱脂UHT乳中で24時間培養後、および1%酵母

抽出液を補足後の、最終 pH と細胞の計測数。全ての結 果は、菌株ATCC 332を除く、他の調査した L. ジョ

脱脂乳+酵母抽出物 UHT+酵母抽出物 10%脱陷乳 UHT CFU/ml pН CFU/ml pН pН pН 好気性培養  $1.0 \times 10^{7}$  $1.0 \times 10^{7}$ 6.7 6.7 6.8 初期值 6.8  $1.8 \times 10^{7}$  $3.0 \times 10^9$ 6.3 3.9 4.0 6.0 24時間 嫌気性培養  $1.0 \times 10^{7}$  $1.0 \times 10^7$ 6.8 n.d. 初期值 6.8 n.d.  $7.0 \times 10^{7}$  $3.2 \times 10^9$ 5.9 3.8 n.d. n.d. 24 時間

【0029】19 のアミノ酸(アラニン、グリシン、ヒ スチジン、リシン、フェニルアラニン、プロリン、セジ ン、トレオニン、システィン、アルギニン、アスパラギ ン酸、アスパラギン、グルタミン酸、イソロイシン、ロ 20 た時に得られた同じ増殖結果を達成できなかった。 イシン、メチオニン、チロシン、トリプトファンおよび バリン) の混合物を、脱脂乳 (各アミノ酸の最終濃度0. 05 g/1 v/v) に加え、 L. ジョンソニィの増殖につい て、酵母抽出液の添加後の酸性化水準に殆ど匹敵する正 の影響を得た。アミノ酸の補足後、4.1 の最終 pH が測 定されたが、細胞計測数はまだ満足すべきものではなか った (4 x 10E +08 cfu/ml)。

7

【0030】乳中における L. ジョンソニィの増殖に対 して本質的役割を有するこれらのアミノ酸を測定するた めに、「オミッション (omission) 技術」(ライター・ ピー& オラム・ジェイ・ディー, J. D, J. Dairy Res, 29 (1962 年), 63-77) は、菌株ATCC 33200 を、 脱脂乳に加え、4つのリボヌクレオシド+硫酸第1鉄 (正の調節)を加え、1つの特定成分に由来する上記の 19 のアミノ酸の混合物をそれぞれ所定の時間で補足し て適用した。細菌インピーデンス技術(RABIT)の 急速分析により、4つのアミノ酸(システィン、アラニ ン、セリンおよびイソロイシン)を同定し、優れた結果 を示した。後者の3つは、外因的に乳に加えた時に、試 験した菌株に対して刺激物であると考えられた。

【0031】同定されたアミノ酸のうち最も強力な役割 はシスティンが有すると見なされ、乳中にこのシスティ ン又はシスチンが欠如すると、細菌の増殖に否定的な影 響を有することが確認された。SH基の役割は、嫌気的生\*

\*存によって完全に置き換えることができないと思われ る。 し. ジョンソニィ培養物の嫌気性培養により実現し た酸素の欠如は、システインを脱脂又は全脂乳に補足し

【0032】pH の測定値は、この化合物の存在におい て好気的条件下で得た 3.9 の pH に対して、システイ ンのない場合に嫌気性の条件下で pH 4.3 の数値を示し た。しかし、システインを除くと、嫌気性よりはむしろ 好気性の環境下で成長可能な細胞数は一層重大な損失と なった。 L. ジョンソニィを好気性条件下で培養した 時、チオグリコール酸の溶液 (最終濃度 0.5% v/v) はシステインに代わるべき能力を示し、1.0 x 10E + 09 cfu/m7 以上の高い細胞計測数を得た。4つの言及し 30 たアミノ酸 (システイン、アラニン、セリンおよびイソ ロイシン)による刺激作用にかかわらず、予期しない否 定的影響が全ての他の 15 のアミノ酸(例えば図3参 照)に対して観察された。

【0033】0.1 g/l (v/v) の遊離塩基 (アデニン、 シトシン、グアニン、ウラシルおよびチミン)、リボヌ クレオシド (アデノシン) シチジン、グアノシン、ウリ ジン) 又はデオキシリボヌクレオシド (2' -デオキシ アドノシン、 2 ' ーデオキシグアノシン、 2' ーデオ キシシチジン、 2' ーデオキシウリジン、チミジン)を 40 補足した 10 %の脱脂乳 (初期の pH 6.8) 中におい て、 L. ジョンソニィ Lal (NCC 533) を37℃で 24 時 間培養後の最終 pH。

【表2】

化学物質	好気性培養	嫌気性培養
遊離塩基	5.9	5.8
リポヌクレオシド	6.3	5.6
デオキシリポヌクレオシド	5.8	5.9

遊離塩基:

アデニン、シトシン、グア 50 ニン、ウラシルおよびチミン

10

リボヌクレオシド: アノシン、ウリジン アデノシン、シチジン、グ

デオキシリボヌクレオシド: 2-デオキシアデノシン、 2-デオキシグアノシン、2-デオキシシチジン、 2-デオキシウリジン、チミジン

類似の結果は、他の菌株、例えば L. ジョンソニィAT

CC 33200<sup>r</sup> に対して得られた。

\*【0034】好気性および嫌気性の培養条件下の 10 % 脱脂乳および4つのリボヌクレオシド、4つのアミノ酸 および硫酸鉄を補足した全脂UHT乳中で L. ジョンソニィ Lal (NCC 533) および他の L. ジョンソニィ菌 株を3プCで 24 時間培養後の最終 pH。

【表3】

NCC 533	ATCC 33200	DSM 20553	ATCC 332	ATCC 11506	DSM 33199
4.0	5.4	4.2	5.1	5.3	4.5
3.9	5.5	4.8	6.2	5.4	4.5
4.2	Nd	Nd	nd	Nd	nd
nd	Nd	Nd	nd	Nd	nd
	4.0 3.9 4.2	533 33200 4.0 5.4 3.9 5.5 4.2 Nd	533 33200 20553 4.0 5.4 4.2 3.9 5.5 4.8 4.2 Nd Nd	533     33200     20553     332       4.0     5.4     4.2     5.1       3.9     5.5     4.8     6.2       4.2     Nd     Nd     nd	533       33200       20553       332       11506         4.0       5.4       4.2       5.1       5.3         3.9       5.5       4.8       6.2       5.4         4.2       Nd       Nd       nd       Nd

·類似の結果が他の菌株に対して得られた。

#### 【図面の簡単な説明】

【図1】図1は、L. ジョンソニィ La1 (NCC 533) を、1%の酵母抽出液および4つのリボヌクレオシド、 4つのアミノ酸と硫酸第1鉄の混合物を補足した 10 % 脱脂および全脂のUHT乳の中で 24 時間の培養後に得 たRABITカーブ間の比較を示す。

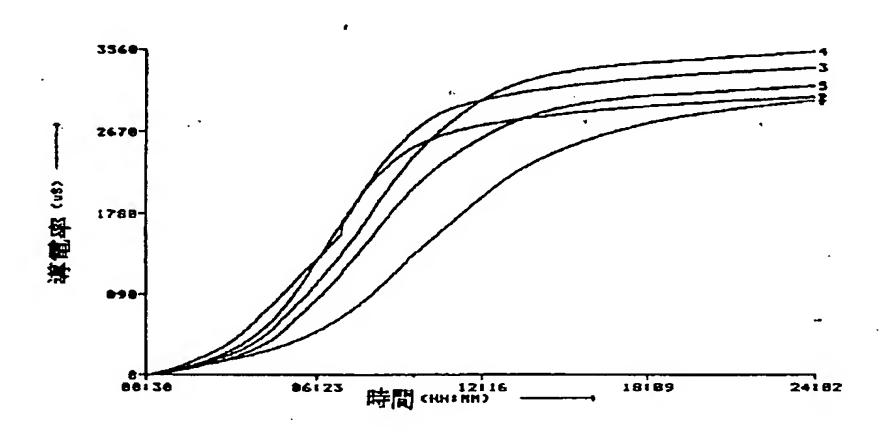
【図2】図2は、L.ガリナラム DSM 33199 の成長における、4つのリボヌクレオシド、4つのアミノ酸および硫酸第1鉄を有する 10 %脱脂および全脂UHT乳の補足の影響を示す。

【符号の説明】

図1において、(1) は全UHT乳+4つのリボヌクレオシド+4つのアミノ酸:(2) は全脂UHT乳+酵母抽出物:(3) は脱脂乳+酵母抽出物:(4) は脱脂乳+4つの20 リボヌクレオシド+4つのアミノ酸+硫酸第1鉄:(5) は脱脂乳+アデノシンおよびグアノシン+4つのアミノ酸+硫酸第1鉄を示す。

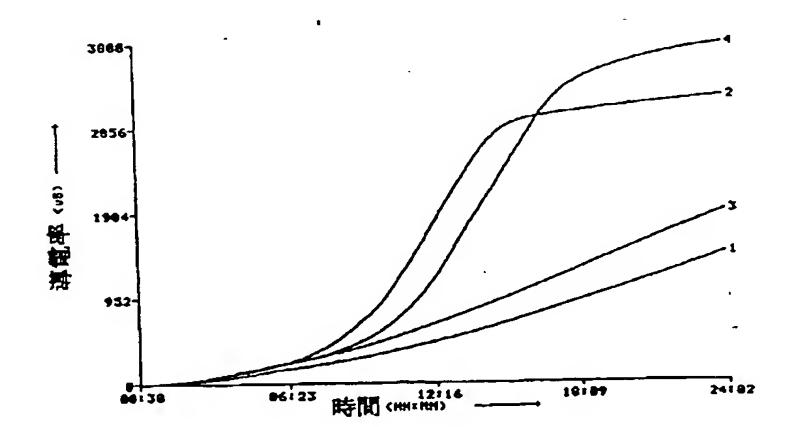
図2において、(1) は10%脱脂乳; (2) は10%脱脂乳+4つのアミノ酸+4つのリボヌクレオシド+硫酸第1 鉄; (3) は全脂UHT乳; (4) は全脂UHT乳+4つのアミノ酸+4つのリボヌクレオシド+硫酸第1鉄を示す。 【図1】

- (1) whole UHT milk + four ribonucleosides + four amino acids;
- (2) whole fat UHT milk + yeast extract;
- (3) skim + yeast extract;
- (4) skim milk + four ribonucleosides + four amino acids + ferrous sulphate;
- (5) skim milk + adenosine and guanosine + four amino acids + ferrous sulphate.



【図2】

- (1) 10% skim milk;
- (2) 10% skim milk + four amino acids + four ribonucleosides + ferrous sulphate;
- (3) whole fat UHT milk;
- (4) whole fat UHT milk + four amino acids + four ribonucleosides + ferrous sulphate.



フロントページの続き

(72)発明者ロベルトレニーロスイス国ルモンブルラン、シュマンボディーユ、24

(72)発明者 ロレンゾ、モレリイ イタリア国 ピアセンカ、ビア シッタデ ラ、2